J. M. Lopez · Pila

1971

UNIV.
LEIDEN
NSL.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Direktor Priv. Doz. Dr. K.H. Göggel möchte ich an dieser Stelle noch einmal meinen Dank aussprechen für die freundliche Unterstützung, die er dieser Arbeit hat zukommen lassen.

Herrn Dr. H. Epperlein danke ich besonders für viele Anregungen und Diskussionen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545303_0013

Erster Gutachter: Priv. Doz. Dr. med. K.H. Göggel

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. K. Hübner

Tag der mündlichen Prüfung: 3.12.1971

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	1
B. Methoden	3
a) Ausfällung des Serumeiweißes und Hydrolyse	3
b) Bestimmung der Gesamthexosamine	3
c) Bestimmung von Galaktosamin	4
d) Berechnung der Konzentration im Serum	8
C. Ergebnisse	10
a) Normalwerte	10
b) Werte bei Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen	11
1. Fettleber	11
2. Akute Hepatitis	13
3. Chron. Hepatitis	15
4. Lebercirrhose	17
c) Zusammenfassung der Ergebnisse	18
D. Diskussion	20
Zusammenfassung	23a
Literaturzusammenstellung	25
Abbildungen	27

A. Einleitung und Fragestellung

Bei zahlreichen Erkrankungen sind die Serumglykoproteine, gemessen an ihrem Kohlenhydratgehalt, erhöht; so bei Autoimmunerkrankungen (1), bösartigen Tumoren (2), Lebererkrankungen (3), Infektionskrankheiten (4), Sarcoidosis (5). Bei den entzündlichen Erkrankungen besteht dabei in vielen Fällen eine Korrelation zwischen dem Glykoproteingehalt des Serums und der Entzündungsaktivität (6). Erniedrigungen im Gehalt der Serumglykoproteine wurden nur selten beschrieben (7).

Definitionsgemäß versteht man unter Glykoproteinen Proteine mit einem Kohlenhydratanteil; unter Glukosaminoglykanen bzw. Galaktosaminoglykanen Polysacharide mit Gluko- bzw. Galaktosamingehalt. Die meisten der oben erwähnten Untersuchungen benutzten als Messgröße für den Glykoproteingehalt entweder ein nach der Serumhydrolyse bestimmtes Kohlenhydrat (Hexose- oder Hexosamingehalt) oder eine mit Perchlorsäure nicht fällbare Serumeiweißfraktion, Seromucoid genannt.

Die Serumglykoproteine in mehrere Bestandteile zu trennen, wurde in der Klinik nur vereinzelt durchgeführt. So haben P r i c e et al (8) Seromucoid mit Hilfe der Diskelektrophorese in einzelne Fraktionen aufgetrennt und zwischen normalen Personen und tuberkulösen Kranken hochsignifikante Unterschiede gefunden.

S ü d h o f f, K r u p p e r und T h u m (9) untersuchten die Glykoproteine innerhalb der Serumeiweißfraktionen beim chronischen Gelenkrheumatismus. Sie fanden einen erhöhten Glykoproteingehalt in der

Alpha-2- und einen erniedrigten in der Gamma-Fraktion. Zu den gleichen Ergebnissen kommen bei derselben Untersuchungsmethode Kurt, Menning und Holtz (1o).

Hirayama (11) fand bei der Ratte bei Untersuchungen nach experimentell erzeugter Lebercirrhose eine Zunahme der an das Leberbindegewebe gebundenen Galaktosamine. Untersuchungen bei Patienten mit Lebercirrhose zeigten Anhaltspunkte dafür, daß eine Zunahme von an Serumeiweiß gebundenem Galaktosamin parallel mit der Leberfibrosierung einhergeht.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Hexosamine, aufgetrennt in Glukosamin und Galaktosamin, im Serum von Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen bestimmt. Dabei wurde von folgenden Fragen ausgegangen:

1.) Welche der Lebererkrankungen gehen mit Veränderungen der Hexosamine einher und sind diese gegebenenfalls charakteristisch dafür?

2.) In welcher Weise sind die beiden Aminozucker Glukosamin und Galaktosamin an der Erhöhung der Hexosamine beteiligt?

B. Methoden

Die Bestimmung erfolgt in drei Arbeitsvorgängen: Im ersten Vorgang wird das Serumeiweiß gefällt und hydrolysiert, im zweiten werden im Hydrolysat die Gesamthexosamine und im dritten selektiv das Galaktosamin bestimmt.

Aus den Werten der Gesamthexosamine und dem korrigierten Galaktosaminwert läßt sich der Glukosaminwert errechnen.

a) Ausfällung des Serumeiweißes und Hydrolyse

Ausfällung von o,5 ml Serum mit 5,o ml absolutem Äthanol in einem Wassermannröhrchen, Zentrifugieren des Präzipitats und Dekantieren. Das im Röhrchen verbliebene Äthanol wird über Nacht in einem Brutschrank bei 5o°C evaporiert.
Danach Zusatz von 2,5 ml 3 N HCl und vierstündige Hydrolyse, Filtrieren durch Filterpapier.

b) Bestimmung der Gesamthexosamine (L u d o w i e g und B e n m a m a n (12))

Reagenzien:
Acetylacetonreagenz: 3%iges Acetylaceton in 0,70 Mol. Na_2CO_3 mit konz. NaOH auf einem pH von 9,8 adjustiert.

Ehrlichreagenz:
3,2g 4-dimethlaminobenzaldehyd (DAB) in 6o ml konz. HCl und 6o ml absolu-

tem Äthanol gelöst.

Alle Substanzen besaßen analytischen Reinheitsgrad.

Vorgehen: Zu o,5 ml des zu untersuchenden Hydrolysates (das nicht mehr als 7o Gamma Hexosamin enthalten sollte) werden 1,o ml Acetylacetonreagenz hinzugefügt. Dieser Ansatz soll ein pH von 9,5 haben. Anschließende Inkubation von 6o Minuten bei 8o°C im Wasserbad. Danach Kühlung für 5 Min. in Wasser von etwa 24°C, dann Zugabe von 7,5 ml 9o%igem Äthanol und Zugabe von 1 ml Ehrlich-Reagenz.

Nach jeder Zugabe gut mischen. Nach einer Stunde Messen der Extinktion im "Zeiss Spektrometer" bei 525 nm und 1 cm Schichtdicke gegen eine mitgeführte Kontrollösung ohne Hexosamin.

c) Bestimmung von Galaktosamin (C e s s i (13))

Zur Bestimmung von Galaktosamin nutzt man die Tatsache aus, daß es Modifikationen der obigen Methode gibt (13), in denen Glukosamin und Galaktosamin nicht gleichrangig eingehen. Der Extinktionswert, der sich ergibt bei einer bestimmten Anzahl Mole Glukosamin, ist in einem festen Verhältnis niedriger als bei derselben Anzahl Galaktosamin.

Bei der Durchführung beider Reaktionen läßt sich danach sowohl die Gesamtmenge als auch die Zusammensetzung der Hexosamine bestimmen.

Reagenzien: Acetylacetonreagenz:
Methanol 5o% Vol., Triäthylamin 25% Vol., Acetylaceton 25% Vol. und Pyridin 1% Vol.

Ehrlichreagenz:
0,8 g 4-DABA, gelöst in 1oo,o ml Äthanol und angesäuert mit 3,5 ml konz. HCl.
Boratpuffer: 5o,2 g. $K_2B_4O_7.4H_2O$
40,6 g. H_3BO_3
auf 1l mit Wasser aufgefüllt, adjustiert auf pH 8,o mit 1 N KOH.

Vorgehen: Die zu untersuchende Hexosaminprobe wird durch Vakuumexsiccation getrocknet.
Die Ansätze werden an einer Wasserstrahlpumpe angeschlossen und gleichzeitig in einem 5o - 6o°C warmen Wasserbad geschüttelt. Dann wird 1 ml Acetylacetonreagenz zugesetzt und 16 Stunden in einem Brutschrank bei 55°C inkubiert. Danach erneute Exsiccation der Ansätze, wie beschrieben. Man fügt dann 6 ml Boratpuffer hinzu und erhitzt anschließend 2o Min. in kochendem Wasser.

Bei dieser Prozedur werden die vom Galaktosamin abstammenden Chromogene in flüchtige, d.h., destillierbare Stoffe übergeführt, während die vom Glukosamin abstammenden Chromogene nicht, oder in nicht flüchtige Stoffe umgewandelt werden. Nach quantitativer Destillation der Galak-

tosaminchromogene im Ehrlichreagenz läßt sich bei bekanntem Hexosamingehalt der Galaktosaminanteil ausrechnen. Der bei der Destillationsprozedur entstehende Farbstoff ist nicht identisch mit dem in Teil b) entstehenden, sondern hat ein von diesem verschiedenes Absorptionsmaximum (Abb.2).

Auf diese Weise lassen sich nicht alle Glukosaminchromogene ausschalten; die Empfindlichkeit von Glukosamin beträgt aber immerhin nur 3% von der des Galaktosamin.

Die quantitative Destillation erfolgte mit einer Destille wie der in Abb. 2a gezeigten. Der Boratpufferansatz wird in einen 1oo ml Rundkolben mit Schliff umgefüllt; das Reagenzglas wird zweimal mit je 2 ml destilliertem Wasser gespült und das Spülwasser ebenfalls in den Rundkolben gegeben. Der Rundkolben wird dann an die Destille angeschlossen und die Flüssigkeit mit dem Bunsenbrenner zum Kochen gebracht. Die ersten 4 ml des Destillats werden direkt in einem graduierten Reagenzglas abgefangen, das 6,o ml Ehrlichreagenz enthält. Auf diese Weise werden alle flüchtigen Chromogene erfaßt. Es entsteht sofort eine himbeerrote Farbe mit einem Absorptionsmaximum bei 55o nm.

Die Ablesung erfolgt innerhalb einer Stunde nach Destillation bei 546 nm im Photometer "Eppendorf" bei 1 cm Schichtdicke gegen eine mitgeführte Kontrolle, die keine Hexosamine enthielt.

Sowohl bei Teil b) als auch bei Teil c) der Methode wurde der Hexosamingehalt anhand von Eichkurven ermittelt,, die mit Lösungen mit bekanntem Hexosamingehalt hergestellt wurden.

Die etwas umständlich aussehende Berechnung auf der nächsten Seite ist notwendig, obwohl, wie bereits erwähnt, Glukosamin etwa 33 mal weniger empfindlich reagiert als Galaktosamin. Da im Normalfall im Hydrolysat etwa 18 mal mehr Glukosamin als Galaktosamin enthalten ist, ist das Glukosamin für einen nicht zu vernachlässigenden Anteil des Farbstoffes verantwortlich und der Extinktionswert muß daher entsprechend korrigiert werden.

d) Der Galaktosamingehalt einer Lösung mit bekanntem Hexosamingehalt läßt sich wie folgt berechnen:

Aus der Beziehung

$$Egal \cdot kgal + Eglu \cdot kglu = kh \cdot Eh$$

oder

$$(Ec - Eglu)\ kgal + Eglu \cdot kglu = kh \cdot Eh$$

ergibt sich, daß

$$Eglu = \frac{kh \cdot Eh - kgal \cdot Ec}{kglu - kgal}$$

und daraus, daß

$$Glukosamin\ (mg\%) = (\ kh \cdot Eh - Ec \cdot kgal\ )\ k$$

wobei $k = \frac{kglu}{kglu - kgal}$

Galaktosamin läßt sich analog ausrechnen oder einfacher aus der Beziehung:
Hexosamine = Glukosamin + Galaktosamin.

Abkürzungen:

Egal = der vom Galaktosamin stammende Extinktionsanteil in Teil c) der Methode

Eglu = der von Glukosamin stammende Extinktionsanteil in Teil c) der Methode

Ec = abgelesener Extinktionswert in Teil c), somit ist Ec = Egal + Eglu

Eh = abgelesener Extinktionswert in Teil b)

kh = Extinktionskoeffizient für Eh mit der Dimension ml/mg • cm , d.h., das Produkt Eh • kh ergibt direkt mg % ml Serum

kglu = Extinktionskoeffizient für Eglu (ml/mg •cm)

kgal = Extinktionskoeffizient für Egla (ml/mg •cm)

Abb. I

Absorptionsspektra des bei Teil b) der Methode entstehenden Farbstoffes

a) reine Glukosaminlösung
b) reine Galaktosaminlösung
c) Serumhydrolysat

Abb. II

Absorptionsspektrum des aus den destillierbaren Chromogenen entstehenden Farbstoffes bei Teil c) der Methodik; auch hier sind die mit Glukosamin, Galaktosamin und Hydrolysat erhaltenen Spektra analog.

C. Ergebnisse

Die hier dargelegten Untersuchungen wurden 1968 und 1969 durchgeführt.

a) Normalwerte

Zur Ermittlung normaler Werte wurden bei 19 gesunden Personen (14 ♂, 5 ♀) des Klinikpersonals die Gluko- und Galaktosaminwerte im Serum bestimmt. Es ergaben sich folgende Mittelwerte bzw. Streuungen:

	Mittelwert (mg%)	S
Glukosamin	119 (1o3 - 135)	± 6,1
Galaktosamin	7,3 (6,5 - 8,1)	± 0,55

Mit der Summe von Glukosamin und Galaktosamin ergibt sich somit ein durchschnittlicher Hexosamingehalt von 126,3 mg%. Dieser Wert liegt höher als der anderer Untersucher (siehe folgende Tabelle):

Autor	Mittelwert (mg%)	Jahr
Winzler(3)	83,4	1954
Boas (14)	1o7,o	1955
Hirayama (11)	98,o	1961
Ruinen (15)	86,o	1967

Die von uns ermittelten höheren Werte sind wahrscheinlich bedingt durch die in dieser Untersuchung angewandte mildere Hydrolyse, da der Hexosaminverlust bei höheren HCl-Konzentrationen und längerer Hydrolysezeit, wie sie bei den anderen Untersuchungen angewandt wurde, groß wird.

b) Gluko- und Galaktosamingehalt im Serum von Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen

Die Untersuchungen wurden im einzelnen bei folgenden Lebererkrankungen durchgeführt:

13 Patienten mit Fettleber
31 Patienten mit akuter Hepatitis
24 Patienten mit chronischer Hepatitis
12 Patienten mit Lebercirrhose

In allen Fällen wurde die Diagnose aufgrund von bioptischen und / oder laparoskopischen Untersuchungen gestellt. Die Lebererkrankung war die einzige oder wichtigste pathologische Veränderung und eindeutig krankheitsbestimmend. Insbesondere litt keiner der Patienten an einer rheumatischen Erkrankung oder an einem malignen Tumor.

1. Fettleber

Bei den in dieser Gruppe untersuchten 13 Fällen lag eine großtropfige Steatosis Hepatis vor, wobei mehr als 50% Zellen Fett enthielten. Eine eindeutige Klärung der Äthiologie war, wie meistens bei der Fettleber, nicht möglich, doch dürfte in dem Großteil der Fälle diese im übermäßigen Alkoholgenuß zu suchen sein.

Fettleber

Name	Geschlecht	Jahre	Galaktosamin mg/1oo ml Serum	Glukosamin mg/1oo ml Serum
Bu Ka	m	61	7,1	12o
De Pe	w	23	8,2	115
Et Jo	m	56	6,5	116
Er Lo	w	33	7,3	125
Il Ha	m	38	7,2	114
Re Hj	m	39	7,5	13o
Rü Ge	m	31	6,1	126
Sc Ha	m	38	8,5	119
Ta Ur	w	46	8,1	116
We Ro	m	46	9,o	115
We Er	m	42	7,2	121
Le Er	m	43	8,o	125
El Jo	m	49	7,1	13o

2. Akute Hepatitis

Es handelte sich bei den hier wiedergegebenen 31 Fällen um eine akut entzündliche, überwiegend mit Ikterus einhergehende Lebererkrankung, die nach den klinischen, laborchemischen und morphologischen Befunden sowie nach dem Krankheitsverlauf einer akuten Virushepatitis entsprachen.

Die Untersuchungen wurden hier in der akuten Phase mit hohen Transaminasewerten durchgeführt.

Akute Hepatitis

Name	Geschlecht	Jahre	Galaktosamin mg/1oo ml Serum	Glukosamin mg/1oo ml Serum
Br Re	m	26	8,8	125
Be Pa	w	49	7,5	114
Be Pe	m	24	9,o	117
Ba Wa	m	34	6,5	119
Ba Ri	m	68	7,3	126
Fr Ag	w	61	1o,o	15o
Fr Wa	m	6o	8,3	13o
Fi Di	m	18	9,5	13o
Gr Ge	m	38	1o,3	11o
Ge Ur	w	35	8,5	112
Go Ha	m	5o	7,7	124
He So	w	57	7,8	121
He Er	w	53	7,1	121
Hu Jö	m	23	9,5	119
Hi Th	w	62	8,4	114
Ju Ma	w	51	8,6	119
Jä So	w	27	7,8	118
Ja Ed	w	26	7,8	122
Ka Kr	w	17	8,9	117
Wo Al	w	69	9,1	115
La Hi	m	71	7,8	123
Re Fr	m	58	8,6	123
Gr Gü	m	34	7,5	118
Me El	w	25	8,7	135
La Jö	m	26	9,8	135
Pf Ma	m	23	9,9	14o
Ko Pe	m	28	8,4	118
He An	w	34	7,5	113
Mi Wi	m	25	7,6	125
Ne Mo	w	56	11,1	119
Tö An	w	81	13,4	142

3. Chronische Hepatitis

Bei den hier untersuchten Fällen lag nach dem morphologischen Befund die agressive Form vor. Bei manchen war ein Ikterus vorhanden.

Die Untersuchungen wurden hier in der 2. - 3. Woche nach stationärer Aufnahme durchgeführt. Eine Behandlung mit Corticosteroiden oder Immunosuppressiva fand zur Zeit der Untersuchung oder davor in keinem der Fälle statt.

Chronische Hepatitis

Name	Geschlecht	Jahre	Galaktosamin mg/ 1oo ml Serum	Glukosamin mg/ 1oo ml Serum
Ba Ur	w	49	11,5	145
Be He	m	61	11,1	14o
Be He	m	28	8,1	119
Be Wo	m	43	1o,4	12o
Bo Pe	m	81	11,7	16o
Da Ma	w	7o	1o,2	118
Be Ma	w	65	16,o	17o
Fi An	w	5o	11,8	15o
Ge Ha	m	42	12,o	159
Gr Wi	m	66	1o,o	139
Go Fr	w	36	7,8	118
Hu Li	w	73	1o,7	131
Ho In	w	25	1o,9	131
He Ma	w	57	11,6	142
Ba Ha	m	48	11,o	137
Ho Al	m	54	11,2	145
Go Fe	m	5o	1o,1	119
Me Ka	m	43	1o,8	131
Pr Ma	w	47	1o,5	121
Ro Jo	w	55	9,8	118
We Jo	m	57	14,1	145
De Ha	m	36	1o,2	122
En Pe	m	72	13,1	132
Ro Ka	m	35	9,7	15o

Es konnte keine Korrelation zwischen dem histologisch festgestellten Bindegewebsgehalt der Leber und dem Glukosamin- oder Galaktosamingehalt des Serumeiweißes beobachtet werden.

4. Lebercirrhose

Es lagen hier sogenannte postnekrotische Cirrhosen vor, bei denen der cirrhotische Umbau als vollständig anzusehen war und Zeichen eines Pfortoderhochdrucks bestanden. Hier wurde in jedem Fall eine Laparoskopie durchgeführt. Laparoskopisch zeigten sich erkennbare Veränderungen der intraabdominalen Gefäße.

Lebercirrhose

Name	Geschlecht	Jahre	Galaktosamin mg/1oo ml Serum	Glukosamin mg/1oo ml Serum
Rü Ma	w	47	15,5	179
Po Pa	m	6o	12,6	171
Sc He	m	36	16,1	183
Ul Ri	m	43	12,5	172
Pr Ma	m	58	13,7	175
Ot El	w	6o	17,6	19o
La Fr	m	59	17,o	187
Ho Fr	m	8o	13,2	175
Os Th	m	66	15,o	18o
Fr Er	m	53	14,7	18o
Sc Wa	m	63	13,4	16o
Di Ri	m	42	16,7	195

c)

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Das Untersuchungsgut ist folgendermaßen aufgegliedert:

Diagnose	Gesamt-anzahl	Zahl männl.	Zahl weibl.	Durch-schnitts-alter	
Gesunde	19	14	5	36 J.	(23 - 5o)
Fettleber	13	1o	3	42 J.	(23 - 61)
Akute Hepa-titis	31	16	15	41 J.	(17 - 71)
Chron. Hepa-titis	24	14	10	52 J.	(25 - 81)
Cirrhose	12	1o	2	56 J.	(36 - 8o)

Die zusammenfassenden Ergebnisse bei den einzelnen Lebererkrankungen sind in nachstehender Tabelle aufgezeigt (siehe Abb. 3 u. 4):

Diagnose	Glukosamin mg/1oo ml Serum (Mittelwert und Standardabweichung)	Galaktosamin mg/1oo ml Serum
Gesunde	119,o ± 6,1	7,3 ± o,5
	(1o3 - 135)	(6,1 - 9,o)
Fettleber	12o,9 ± 5,7	7,5 ± o,8
	(114 - 13o)	(6,1 - 9,o)
Akute Hepa-titis	122,9 ± 9,1	8,6 ± 1,4
	(11o - 142)	(6,5 - 13,4)
Chron. Hepa-titis	138,9 ± 16,3	11,o ± 1,7
	(118 - 17o)	(7,8 - 16,o)
Cirrhose	178,9 ± 9,3	14,8 ± 1,8
	(16o - 195)	(12,5 - 17,6)

In der nächsten Tabelle sind die Normalwerte gleich 100% gesetzt worden. Man sieht deutlich den stärkeren Anstieg von Galaktosamin im Vergleich zu den Gesamthexosaminen (siehe Abb.5).

Diagnose	Gesamthexosamine	Galaktosamin
Gesunde	100 %	100 %
Fettleber	101 %	103 %
Akute Hepatitis	103 %	115,5 %
Chron. Hepatitis	114,7 %	150,1 %
Cirrhose	150,6 %	204,4 %

Der unterschiedliche Gehalt an Hexosaminen zwischen den Gruppen mit chronischer Hepatitis und Cirrhose gegenüber der Kontrollgruppe ließ sich statistisch sichern.
(2p 0,001)

Die Galaktosamin-Unterschiede der Gruppen mit akuter Hepatitis, chronischer Hepatitis und Cirrhose, sowohl im Vergleich zu der Kontrollgruppe, als auch unter sich, waren ebenfalls signifikant.
(2p 0,001)

Der gegenüber der Norm relativ höhere Anteil des Galaktosamin am Gesamthexosamingehalt des Serums konnte für die Gruppen akute Hepatitis, chronische Hepatitis und Cirrhose ebenfalls statistisch gesichert werden.
(2p 0,001)

D. Diskussion

Die in der vorliegenden Arbeit bestimmten Hexosaminspiegel im Serum stehen - wie schon in der Einleitung angeführt -stellvertretend für die im Plasma vorkommenden Glykoproteine.Änderungen der Glykoproteine spiegeln sich in Änderungen der Hexosamine wider.

Die vorliegenden Befunde ergeben eine Erhöhung beider Aminozucker, aber vorwiegend von Galaktosamin,vor allem bei der chronischen Hepatitis und der Lebercirrhose.

Da beide Aminozucker einen Bestandteil des Bindegewebes darstellen und gerade bei den letztgenannten Erkrankungen bedeutende Umbauvorgänge im Leberbindegewebe vostatten gehen, liegt es nahe, einen ursächlichen Zusammenhang zwischen beiden Ergebnissen zu vermuten.Tatsächlich fand Hirayama (11) bei der Ratte eine Korrelation zwischen dem Glykoproteingehalt des Serums und dem Grad der Leberfibrosierung.Beim Menschen konnte er ebenfalls eine gewisse Parallelität finden.Erst die neueren Befunde von Becker (17)

der zeigen konnte, daß das Bindegewebe in der cirrhotischen Leber sich auch in qualitativer Hinsicht vom normalen unterscheidet, machen die obige Ansicht sehr wahrscheinlich; er fand - in Übereinstimmung mit den hier vorgelegten Ergebnissen - daß Galaktosamin vermehrt in das cirrhotische Bindegewebe eingebaut wird.

Die Annahme, daß die Erhöhung der Hexosamine im Serumeiweiß mit dem vermehrten- und in seiner Zusammensetzung veränderten - Leberbindegewebe in Zusammenhang steht, scheint somit berechtigt zu sein.

Diese Annahme erklärt jedoch die Ergebnisse nicht restlos, denn die Hexosamine, vorwiegend das Galaktosamin, sind auch bei den Fällen mit chronischen Hepatitiden ohne Bindegewebsvermehrung erhöht.

Es ist deswegen von Nutzen, auf die Stellungnahme anderer Untersucher zu Ergebnissen bei anderen Erkrankungen kurz einzugehen.

Die schon früh gefundene Erhöhung der Glykoproteine bei zahlreichen entzündlichen und tumorösen Erkrankungen führte zu Deutungen, die zu einem besseren Verständnis der obigen Ergebnisse führen können. Eine der ersten entwickelten Hypothesen führt eine solche Erhöhung auf das Freiwerden von Glykoproteinen aus dem Bindegewebe bei dessen Umbauvorgängen zurück. Zahlreiche Untersuchungen scheinen diese Ansicht zu bestätigen.

C a t c h p o l e (17) konnte bei Mäusen aus Bindegewebe eine Eiweißfraktion isolieren, die sich in ihren untersuchten chemischen Eigenschaften wie Orosomucoid verhält. Diese Fraktion ist im tumorumgebenden Bindegewebe vermehrt.

W i n z l e r, B u r k, H e s s e l b a c h (18) zeigten, daß das aus einem Tumorbereich abfließende venöse Blut reicher an Glykoproteinen ist als arterielles.

Bei Fällen mit durch Nebenschilddrüsenhormonen bedingtem Abbau der Knochengrundsubstanz konnte eine Erhöhung der Serumglykoprote_ine beobachtet werden (19).

Die Tatsache, daß gewebsgebundene Glykoproteine gefunden wurden, die in ihrem chemischen Verhalten denjenigen im Blute nahe stehen, stützt die eben angeführte Deutung. Man fand solche Glykoproteine in der Aorta (2o), in heilenden Wunden (21), in der Lunge (22) und in anderen Organen.

Eine zweite, hauptsächlich von S h e t l a r (23) vertretene Meinung postuliert, daß Glykoproteinerhöhungen eine Begleiterscheinung von Proliferationsvorgängen im Organismus seien. Er und Mitarbeiter beobachteten eine Parallelität zwischen Zellproliferation und Serumglykoproteingehalt bei Mäusen mit experimentell erzeugten Entzündungen (24).

W e r n e r (25) zeigte beim Kaninchen, daß die proteingebundenen Hexosamine im Serum ansteigen, wenn man dem Tier erhebliche Mengen Blut entzieht und somit die Knochenmarksproliferation anregt.

Betrachtet man nun diese zwei wichtigsten Theorien und bezieht sie auf unser Problem, so kommt man zu folgenden Schlußfolgerungen:

Die erste Theorie (die erhöhten Serumglykoproteine stammen vom Bindegewebe) fügt sich gut in die obige Überlegung ein. Nicht in Einklang damit steht die Tatsache, daß auch chronische Hepatitiden ohne histologisch nachgewiesene Bindegewebsvermehrung einen erhöhten Gluko- und Galaktosamingehalt im Serum aufweisen. Hier ist immerhin denkbar, daß die Umbaurate noch nicht zu einer Bindegewebsvermehrung geführt hat, oder , in manchen Fällen zumindest, der untersuchte Leberzylinder nicht für das ganze Organ repräsentativ war.

Die Annahne der zweiten Theorie (Proliferationstheorie) stößt auf erhebliche Schwierigkeiten; nach ihr hätten die untersuchten hochfloriden akuten Hepatitiden die höchsten Werte haben müssen, was nicht der Fall war.

Man kann nun eine vorläufige Hypothese aufstellen, um die Ergebnisse dieser Arbeit auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen.

a) Die Erhöhung der Serumglykoproteine bei der chronischen Hepatitis und Cirrhose ist bedingt durch die erhöhte Umsatzrate im Leberbindegewebe.
b) Die gleichzeitige Verschiebung des Galaktosamin/ Glukosaminquotienten widerspiegeln möglicherweise eine Änderung in der qualitativen chemischen Zusammensetzung des Leberbindegewebes.

Es sind in der letzten Zeit etwa 30 verschiedene Arten kohlenhydrathaltiger Proteine im Serum gefunden worden (26). Die hier gefundenen Werte sind als eine Endsumme der Hexosamine aller im Serum befindlichen Glykoproteine zu verstehen, eine endgültige Entscheidung über die Richtigkeit dieses Standpunktes wird daher kaum zu fällen sein, bevor man differenziertere Untersuchungen anstellt über die Zusammensetzung der Serumglykoproteine beim Normalen und bei Lebererkrankungen.

Eines wird immerhin aus dem unterschiedlichen Gluko- und Galaktosaminverhalten sichtbar: es ist nicht erschöpfend, bei der Bestimmung der Glykoproteine sich auf die Bestimmung eines Kohlenhydrates zu beschränken, wie vielfach üblich. Wünschenswert wäre, man ginge auf die Bestimmung einzelner definierter Glykoproteine über, oder auf die der elektrophoretisch getrennten Serumeiweißfraktionen.
Auf diese Weise scheint die Suche nach neuen diagnostischen Wegen um den Verlauf der chronisch-entzündlichen Lebererkrankungen zu verfolgen und beurteilen erfolgversprechend zu sein. Die unterschiedlichen Werte der Serumhexosamine zwischen chronischen Hepatitiden einerseits und vollausgebildete Cirrhosen andererseits, lassen einen dafür geeigneten Parameter erwarten.

Zusammenfassung

In den Sera von 8o leberkranken Patienten wurden die gesamten proteingebundenen Hexosamine und als Teilfraktion das Galaktosamin bestimmt. Die Untersuchungen erfolgten nach Modifikationen der von Elson und Morgan (1933) zur Bestimmung der Aminozucker eingeführten Methode, wobei für die Gesamthexosamine das Verfahren nach Ludowieg und Benmaman (1967) und für das Galaktosamin die Arbeitsvorschrift von Cessi und Serafini-Cessi (1963) benutzt wurden.

Das Untersuchungsgut umfasste neben 19 gesunden Kontrollpersonen 13 Patienten mit Fettleber, 3o mit akuter Hepatitis, 23 mit chronischer Hepatitis und 14 mit Lebercirrhose.

Die Gesamthexosamine waren bei der chronischen Hepatitis im Mittel um 14,7% und bei der Lebercirrhose um 5o,6% im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöht (jeweils $2p < o,oo1$). Der unterschiedliche Serum-Hexosamingehalt beider Krankheitsgruppen ließ sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,1% statistisch sichern. Die untersuchten Fälle von Fettlebern und akuten Hepatitiden zeigten im Mittel keine sicheren Abweichungen von der Norm.

Die Mittelwerte des Galaktosamin lagen bei der akuten Hepatitis um 15,5 %, bei der chronischen Hepatitis um 5o,1% und bei der Lebercirrhose um 1o4,4% über dem der Kontrollgruppe. Sowohl diese Erhöhung als auch die Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen waren signifikant (jeweils $2p < o,oo1$). Hier zeigte lediglich die Fett-

lebergruppe keine Besonderheiten.

Bemerkenswert war die im Vergleich zu den Gesamthexosaminen stärkere Erhöhung des Galaktosamin. Der gegenüber der Norm relativ höhere Anteil des Galaktosamin am Gesamthexosamingehalt des Serums konnte für die Untersuchungsgruppen akute Hepatitis, chronische Hepatitis und Lebercirrhose statistisch gesichert werden ($2p < 0{,}001$).

L I T E R A T U R

1. BOAS N.F., SOFFER L.J., J. Clin. Edocr. 11(1951) 39
2. WINZLER R.J., Advances in Cancer Res. 1953, Academic Press, New York
3. WINZLER R.J., GLICK, Methods of Biochemical Analysis Vol. 2, Interscience, N.Y. 1955
4. SHETLAR M.R., SHETLAR C.L., RICHMOND V., EVERETT M.R. Cancer Res. 1o (195o) 681
5. BÖTTINGER L.E., NORBERG R., Acta Med. Scand. 175 (1964) 373
6. JIMENEZ DIAZ C., Rev. Clin. Esp. 59(1953) 376
7. GREENSPAN E.M., Arch. Int. Med. 93 (1954) 863
8. PRICE W.H., HARRISON H., MOLENDA J., Amer. J. Epidem. 83 (1966) 1552
9. SÜDHOF H., KRUPPA H., THUM J.M., Z. Rheumaforschung 18 (1959) 337
1o. KURTH H., MENNING B., HOLTZ H., Z. Inn. Med. 2o (1965) 47o
11. HIRAYAMA C., YOSHIKAWA T., HIDEROSHI T., The Lancet (1961) 532
12. LUDOWIEG J., BENMAMAN J.B., Anal. Biochem. 19 (1967) 8o
13. CESSI C., SERRAFINI-CESSI F., Biochem. J. 88 (1963) 132
14. BOAS N.F., J. Biol. Chem. 2o4 (1953) 553
15. RUINEN L., SHOLTEN J.H., MANDEMA E., Clin. Chim. Acta 19 (1968) 49
16. BECKER K., Z. Ges. Med.Exp. 151 (1969) 1
17. CATCHPOLE H.R., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75 (195o) 221
18. WINZLER R.J., BURK D., HESSELBACH H.J., J. Nat. Cancer Inst. 4 (1944) 417
19. SHETLAR M.R., BRADFORD R.H., JOEL W., HOWARD R.P. in: The Parathyreoids, R.O. Greeps, R. Talmage, Springfield, Ill.
2o. BERENSON G.S., FISHKIN A.F., Arch. Biochem. Biophys. 97 (1962) 18
21. SHETLAR M.R., LACEFIELD E.G., WHITE B.N., SHILLING J.A., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1oo (1959) 5o

22. BOURRILLON R., MICHON J., Bioch. Biophys. Acta 44 (1960) 608

23. SHETLAR M.R., FOSTER S.V., KELLER K.H., SHETLAR C.L., BUYAN R.S., EVERETT M.R., Cancer Res. 9 (1949) a 515

24. SHETLAR M.R., ERWIN C.P., EVERETT M.R., Cancer Res. 10 (1950) 445

25. WERNER J., Acta Phys. Scand. 19 (1949) 27

26. WINZLER R.J., in: The Amino Sugars. E. Balasz and M.R. Jeanloz 1965 Academic Press, N.Y.

Abb. 1

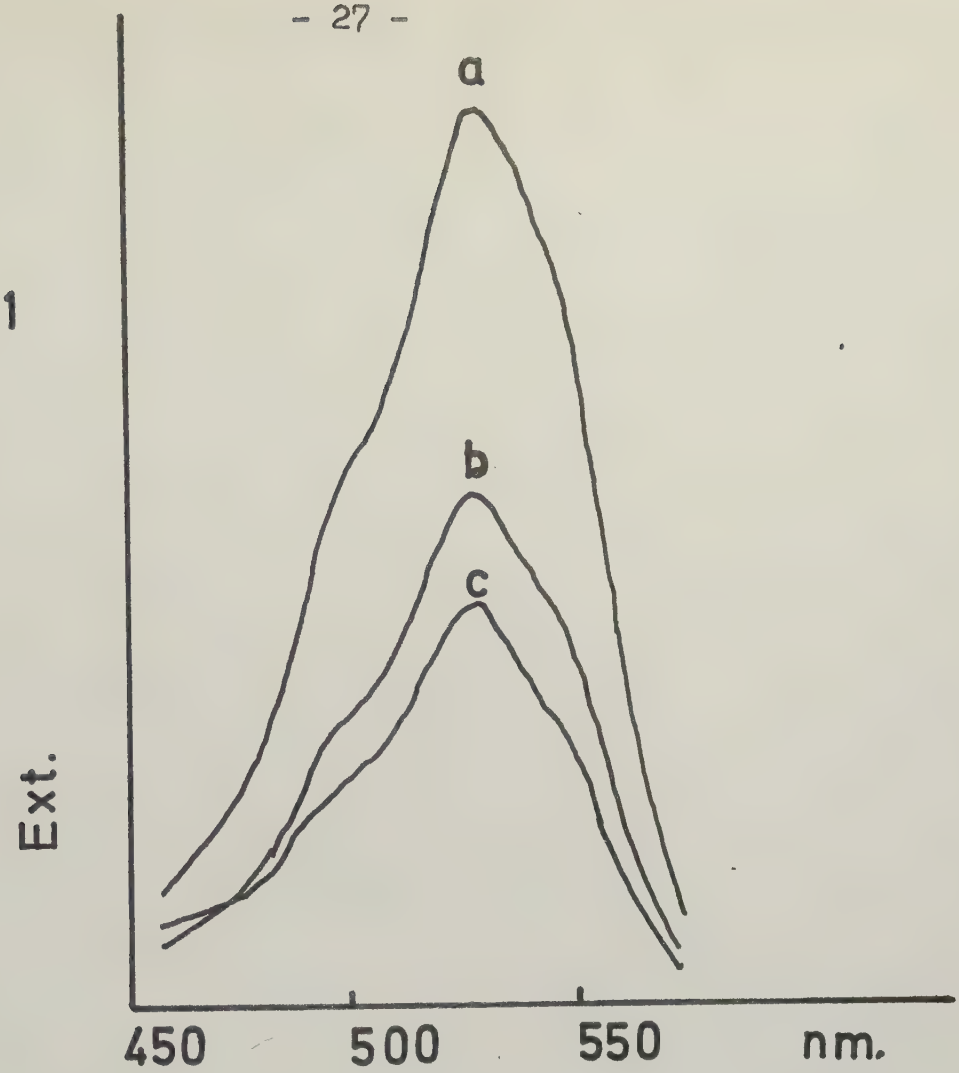
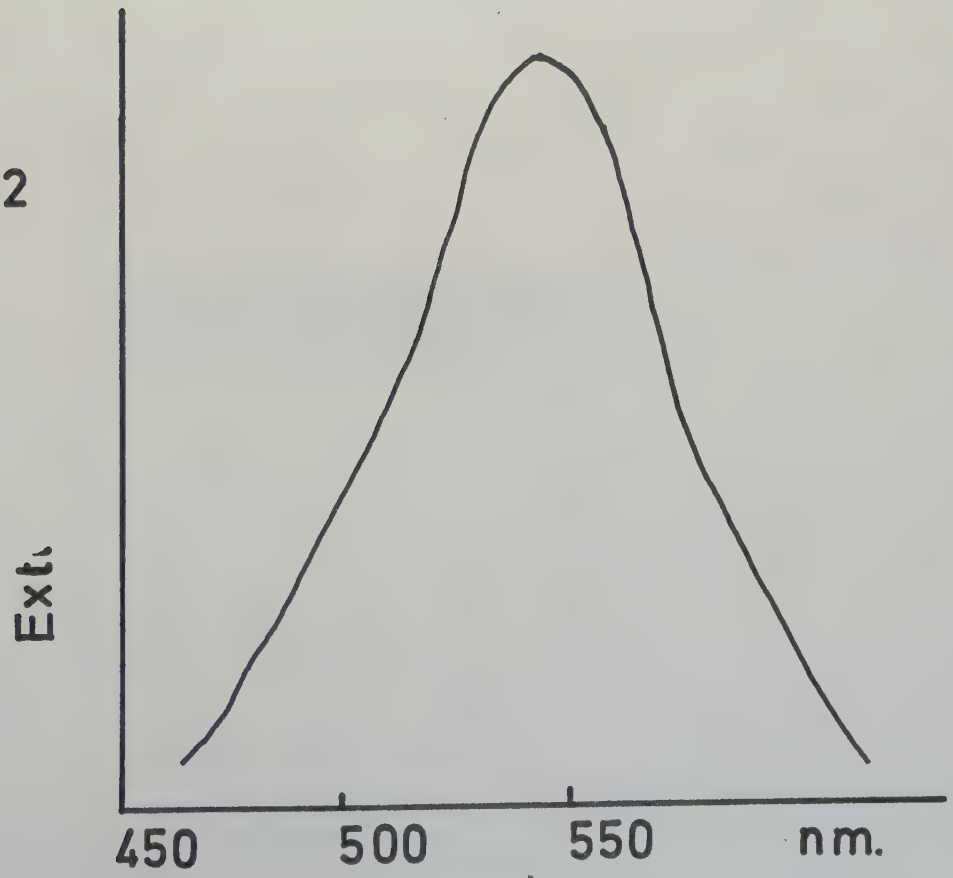


Abb. 2



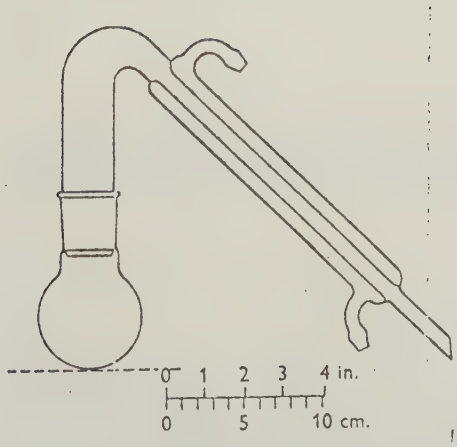


Abb. 2 a
n. Cessi (13)

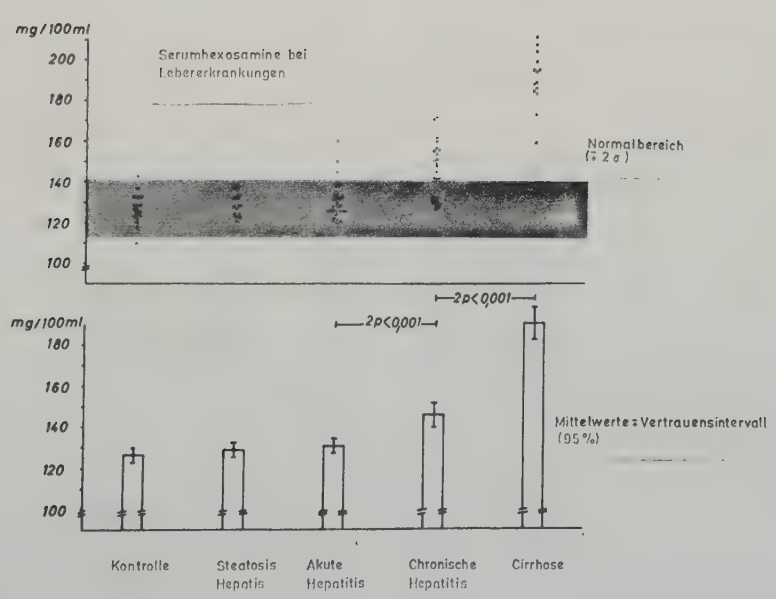


Abb. 3

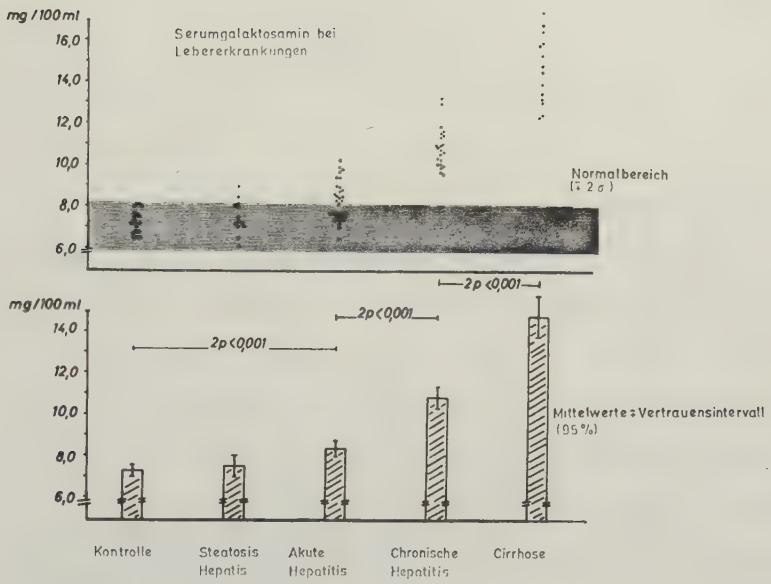

mg/100ml
16,0
14,0
12,0
10,0
8,0
6,0
Serumgalaktosamin bei Lebererkrankungen
Normalbereich (± 2σ)
2p <0,001
mg/100ml
14,0
12,0
10,0
8,0
6,0
2p <0,001
2p <0,001
Mittelwerte ± Vertrauensintervall (95%)
Kontrolle
Steatosis Hepatis
Akute Hepatitis
Chronische Hepatitis
Cirrhose

Abb. 4

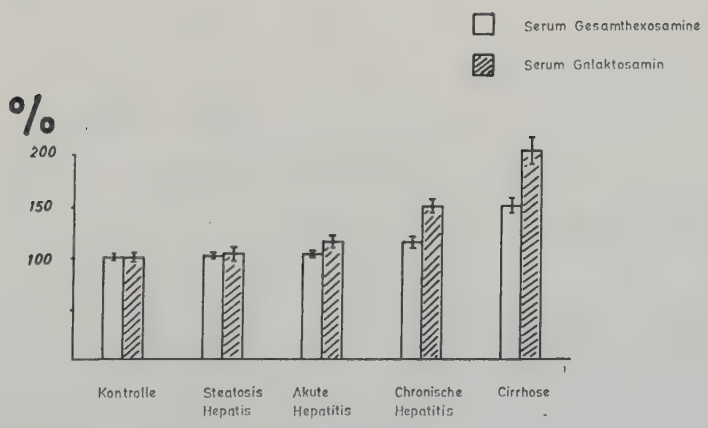

Serum Gesamthexosamine
Serum Galaktosamin
%
200
150
100
Kontrolle
Steatosis Hepatis
Akute Hepatitis
Chronische Hepatitis
Cirrhose

Abb. 5

Lebenslauf

Am 28.9.1941 wurde ich in Santander/Spanien geboren. Ich besuchte dort die Schule und legte im Juli 1959 am "Instituto Nacional de Ensenanza Media" das Abitur ab.
Vom März 1960 bis März 1961 besuchte ich das Frankfurter Kolleg für ausländische Studienbewerber und ließ mich im Sommersemester 1961 an der Medizinischen Fakultät der Frankfurter Universität immatrikulieren.
Im März 1962 legte ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Oktober 1963 die Ärztliche Vorprüfung und im Februar 1967 die Ärztliche Prüfung an dieser Universität ab.
Vom 1. Juni 1967 bis zum 31. Oktober 1967 leistete ich die chirurgische Vorbereitungszeit als Medizinal-Assistent in der Chirurgischen Klinik des Stadt-Krankenhauses Hanau ab.
Vom 1.November 1967 bis zum 30.Mai 1969 war ich an den Kliniken der Universität Frankfurt als Medizinal-Assistent tätig, und zwar in den Fächern Innere Medizin, Kinderheilkunde, Dermatologie und Frauenheilkunde. Während dieser Zeit arbeite ich an der hier vorgelegten Dissertation.
Seit dem 1. Juni 1969, der Beendigung meiner ärztlichen Ausbildung, bin ich als wissenschaftlicher Angestellter am Lehrstuhl für Biochemie der Ruhr-Universität Bochum (Prof. Dr. G. Pfleiderer) tätig.